Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. W. Schwerd

# VERÄNDERUNGEN DES ALKOHOLGEHALTES IN BLUTPROBEN ZWISCHEN ENTNAHME UND UNTERSUCHUNG

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Ilke Hillermeier

aus Uffenheim

Würzburg, den 26. November 1980

1981

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. W. Schwerd

# VERÄNDERUNGEN DES ALKOHOLGEHALTES IN BLUTPROBEN ZWISCHEN ENTNAHME UND UNTERSUCHUNG

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Ilke Hillermeier
aus Uffenheim

Würzburg, den 26. November 1980

| | |
|---|---|
| Referent: | Prof. Dr. W. Schwerd |
| Korreferent: | Prof. Dr. E. Schulz |
| Dekan: | Prof. Dr. K.-H. Wulf |

Tag der mündlichen Prüfung: 16.2.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS


| | | Seite |
|---|---|---|
| A. | Einleitung und Fragestellung der eigenen Untersuchungen | 1 |
| B. | Literatur | 1 |
| | a) Untersuchungen an Leichenblut | 2 |
| | b) Untersuchungen über die Verdunstung des Alkohols in geschlossenen Reagenzgläsern | 4 |
| | c) Untersuchungen an länger im Kühlschrank gelagerten Proben | 5 |
| | d) Die Entdeckung des Oxyhämoglobin als Oxidans | 7 |
| C. | Eigene Untersuchungen | 9 |
| | a) Untersuchungen an mit Luft verkeimten Blutproben | 10 |
| | b) Aufbewahrung in nicht geöffneten, vollständig gefüllten Venülen | 11 |
| | c) Aufbewahrung in nicht geöffneten, nicht vollständig gefüllten Venülen | 14 |
| | d) Untersuchungen am vom Blutkuchen getrennten Serum | 15 |
| D. | Diskussion und Zusammenfassung | 16 |
| E. | Literaturverzeichnis | 20 |

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0049

## A. EINLEITUNG UND FRAGERSTELLUNG DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

Die Frage der Haltbarkeit von Serumblutproben und die Reproduzierbarkeit der Alkoholkonzentrationsmessung hat in den letzten Jahren bei Gerichtsverhandlungen immer wieder eine Rolle gespielt. Insbesondere wurde von der Verteidigung behauptet, daß die Blutproben nach der Entnahme eine Veränderung durch den Postversand oder durch zu langes Liegenlassen am sonnenbeschienenen Fenster erfahren hätten.

Aufgabe der hier vorliegenden Untersuchung war es zu prüfen, auf welche Weise und in welchem Ausmaß die Alkoholkonzentration der Blutproben im Zeitraum zwischen Entnahme und Untersuchung beeinflußt werden kann.

## B. LITERATUR

ELBEL, der sich schon 1937 mit diesem Problem beschäftigte, kam nach seinen Untersuchungen an mit Alkohol versetztem Schweineblut zu dem Ergebnis, daß es berechtigt sei, "die Analysenergebnisse von Blutproben, welche uneröffnet einige Tage gelegen haben, zu verwerten".

Auch 1956 war ELBEL noch der Meinung, daß Blutproben in uneröffneten Venülen auch durch Lagerung oder Zimmerwärme nicht gefährdet seien.

Ein Bericht des Oberstaatsanwaltes FENDT beim Landgericht München I an den Generalstaatsanwalt beim Oberlandesgericht München

vom 5.2.1974 nahm die Frage wieder auf. Der Berichterstatter war der Meinung, daß eine zentrale Auswertung von Blutproben in der Staatlich-Chemischen Untersuchungsanstalt bei den meisten Fällen eine genaue Feststellung des Blutalkoholkonzentrationswertes (BAK) nicht mehr ermöglichen würde. Er glaubte, daß die Hämolyse, verursacht durch den Postversand, die ursprüngliche Äthanolkonzentration verändern würde und verwies auf einen Aufsatz in der Medical Tribune vom 25.1.1974 mit der Überschrift "Postversand von Serumproben fragwürdig; Fehlerquellen bis zu 40 % bei vielen Laborwerten!" Die Autoren dieses Artikels (ROMMEL, SCHÄFER und ÜBERLA) berichteten jedoch nur über Veränderungen klinisch-chemischer Werte, wie der Harnstoff- und Glukosekonzentration. Die Veränderung der BAK durch den Transport hatten sie nicht untersucht.

a) UNTERSUCHUNGEN AN LEICHENBLUT

SCHWERD stellte 1954 fest, daß bei Leichenblutproben nach drei- bis viertägiger Lagerung in allen Fällen mit Äthanolneubildung durch Fäulnis zu rechnen ist. Er kam zu dem Ergebnis, daß der Anstieg des Äthanolgehaltes von dem eingefüllten Blutvolumen im Reagenzglas abhängt. Eine geringe Luftschicht über dem Blut hatte eine Erhöhung der Alkoholkonzentration bis 0,48 °/oo zur Folge. Demgegenüber wurde unter völligem Luftabschluß ein Anstieg bis zu 1 °/oo verzeichnet, wenn das Blut vorher alkoholfrei war.

WEINIG und LAUTENBACH bestätigten 1962 diese Ergebnisse. Auch sie nahmen die Möglichkeit einer Neubildung von Alkohol durch bakterielle Vorgänge an. Sie waren der Meinung, daß dies nach 48 Stunden die Regel sei. Bei den von ihnen untersuchten Leichenblutproben, die drei Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, fanden sie einen Anstieg der Äthanolkonzentration (gemessen mit der ADH-Methode) um 0,43 °/oo. Wenn zwischen Todeszeitpunkt und Untersuchungstermin

mehr als sechs Tage lagen, stieg der Alkoholgehalt bis zu 1 °/oo an.

Die Versuche von OSTERHAUS und JOHANNSMEIER 1966 ergaben "bei Raumtemperatur im Reagenzglas, zunächst ohne Luftüberstand, in jedem Falle die Neubildung von Äthylalkohol." Die Autoren fanden bei ihrer Analyse einen durchschnittlichen Anstieg von 0,1 °/oo in zwei Tagen. Bei 80 % der untersuchten Blute wurden 0,5 °/oo nicht überschritten. Der höchste Wert lag bei 0,9 °/oo - 1,0 °/oo. Sie stellten fest, daß der jeweils erreichte Höchstwert viele Monate annähernd konstant blieb; d.h. es fand kein Äthanolabbau statt. In den Proben, die nach den Angaben SCHWERDs zur Konservierung mit NaF versetzt waren, wurden während der gesamten Versuchszeit keine Alkohole neugebildet.

BOGUSZ, GUMINSKA und MARKIEWICZ untersuchten 1970 den Zusammenhang zwischen Blutglucosespiegel und Äthanolneubildung in faulendem Leichenblut. Sie lagerten 16 Proben, die sie 20 - 36 Stunden nach dem Tod aus dem Herzventrikel entnommen hatten, bei 20°C unter anaeroben Bedingungen. Auch sie bestätigten das Ergebnis der vorgenannten Autoren, daß der Äthanolgehalt bis zum 5. Tag steil ansteigt und dann auf diesem Niveau verharrt, bzw. langsam abnimmt.

JOACHIM, WUERMELING und WÜST diskutierten 1975 die Möglichkeit der postmortalen Entstehung von Äthanol im Diabetikerblut. Die nach Meinung der Autoren im Blut von Diabetikern schon zu Lebzeiten befindlichen Hefezellen sollten die Äthanolneubildung im Leichenblut besonders fördern. Sie beimpften mit Glucose angereichertes Schweineblut mit einer Hefesuspension. Nach 24 Stunden ließ sich ein durch Gärung entstandener Alkoholspiegel von 0,75 - 1,51 °/oo nachweisen. Nach 48 Stunden war der Höhepunkt dieses Anstiegs überschritten. Durch Aufbewahrung der Proben im Kühlschrank oder Zusetzen von NaF oder Na-Citrat ließ sich die Gärung vollständig unterbinden.

Diese Untersuchungen beweisen, daß es durch Verkeimung der Blutproben, wie das bei Leichenblut oft der Fall ist, zu einer erheblichen Äthanolneubildung kommen kann.

## b) UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE VERDUNSTUNG DES ALKOHOLS IN GESCHLOSSENEN REAGENZGLÄSERN

RADMANN machte 1940 einen Versuch mit zu einem Sechstel gefüllten Blutproben, die zwischen der Erst- und Nachuntersuchung 48 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt worden waren. Er stellte fest, daß die Alkoholkonzentration maximal um 10,4 % abnahm und vermutete, daß der Alkohol verdunstet sei.

KARGER und SACHS widerlegten dies 1958: Sie waren der Meinung, daß dieser Abfall nicht signifikant gewesen sei und berechneten mit Hilfe der Lösungskoeffizienten von Alkohol für Luft und Wasser, daß in einem verschlossenen 20 ml-Röhrchen bei 0,5 ml Füllung und 20°C Temperatur höchstens 1 % des Äthanols in den Luftraum über der Probe verdunsten könnten.

Auch SCHMIDT und HECK kamen 1967 durch Berechnungen zu dem Ergebnis, daß bei geschlossenen Venülen keine wesentlichen Verdunstungsverluste möglich seien. Um das zu beweisen, versetzten sie Rinderserum mit einer definierten Menge Alkohollösung und maßen die sich ergebende Äthanolkonzentration mit der Widmark- und ADH-Methode in Fünffachbestimmung. Das Alkohol-Serumgemisch füllten sie vorher in Mengen von 1,04 g bis 14,28 g in Venülen. 16 Venülen wurden 12 Stunden bei 8°C, 6 Venülen wurden 12 Stunden bei 25°C aufbewahrt. Die Abweichungen lagen im Bereich der Streubreite dieser Analysemethoden. Zusätzlich entnahmen sie aus vier vollständig gefüllten uneröffneten Venülen, deren Gummistopfen sie mit den Hohlnadeln neuer 15 ml,Venülen durchstachen, geringe Serummengen. Die Alkoholkonzentrationsbestimmung nach

2 Tagen aus diesem Serum ergab auch hier nur Abweichungen, die im Streubereich der Bestimmungsmethoden lagen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß bei noch nicht geöffneten Venülen kein Alkoholverlust durch Verdunstung auftritt.

c) UNTERSUCHUNGEN AN LÄNGER IM KÜHLSCHRANK GELAGERTEN PROBEN

Sehr oft wurde die Haltbarkeit alkoholhaltiger Blutproben geprüft, die lebenden Personen entnommen und nach der Erstbestimmung für eine eventuelle Nachuntersuchung einige Zeit im Kühlschrank aufbewahrt wurden.

KRAULAND, VIDIC und FREUDENBERG untersuchten 1961 130 fluoridfreie Blutproben, die sie bei Kühlschranktemperatur 100 - 1000 Tage lagerten. Die Abnahme des Alkoholgehaltes betrug in 100 Tagen durchschnittlich 0,03 ‰ - 0,04 ‰. Diese Autoren fanden bei 30 % der Proben ein Bakterienwachstum, dem sie jedoch keinen Einfluß auf die Alkoholkonzentration zuschrieben. Sie vermuteten, daß die alleinige Ursache des Abfalls der Äthanolkonzentration in der Zunahme des spezifischen Serumgewichtes durch hämolysierte Blutkuchenbestandteile läge.

Bei der Untersuchung durch SCHWERD, DIMMLING und KREBS 1967 waren 20 % der im Kühlschrank gelagerten Proben bakteriell verunreinigt. Die Untersucher stellten eine Abhängigkeit der Abnahme des Alkoholgehaltes von der bakteriellen Besiedlung nur bei Sproßpilzen fest und folgerten daraus, daß ein Teil des Alkohols enzymatisch abgebaut worden sei.

Auch MITTMEYER fand 1972 einen Abfall der Äthanolkonzentration im flüssigen Überstand von länger im Kühlschrank gelagerten Blutproben. Er diskutierte die Möglichkeit, daß sich Alkohol in der korpuskulären Phase, den hochmolekularen Proteinen, anreichern könnte. Der Autor stellte sogar einen leichten Anstieg der BAK bei gut gefüllten und nur kurzzeitig gelagerten Venülen fest.

SCHWERD, DIMMLING und KRANENBURG gingen 1972 noch einmal auf die Untersuchungen von KRAULAND, VIDIC und FREUDENBERG ein. Sie waren der Ansicht, daß die Abweichungen vom Ergebnis der Erstuntersuchung bei länger gelagerten Blutproben größer seien als durch eine Alkoholverteilungsänderung zu erklären wäre. Sie beimpften 150 Blutproben mit 10 verschiedenen Erregern; 15 Proben ließen sie unbeimpft. Nach 15-monatiger Aufbewahrung im Kühlschrank fanden sich bei den beimpften Proben Äthanolverluste von 55 % - 92 %. Bei den unbeimpften Proben fiel der Alkoholspiegel um 13 % - 86 % ab. Die Verschiebung des Wassergehaltes wurde bei der Berechnung der Äthanolkonzentration berücksichtigt. Nur bei einem Viertel der unbeimpften Proben konnten die Untersucher vermehrungsfähige Bakterien nachweisen. In einem Teil der übrigen Proben fanden sich Bakterienleichen.

IFFLAND kam 1974 bei seinen Analysen zu dem Ergebnis, daß die Differenz zwischen Erst- und Nachuntersuchung bei alkoholhaltigen Blutproben mit zunehmender Lagerungszeit größer wurde. Er stellte fest, daß die prozentuale Abnahme der BAK bei Proben mit geringem Äthanolgehalt größer war als bei Proben höherer Konzentration. Wie SCHWERD war er der Meinung, daß das Absinken nicht allein durch Wasserverschiebung zwischen Serum und Blutkuchen zu erklären sei, da durch rechnerische Korrektur dieser Vorgang berücksichtigt wurde. Auch IFFLAND schloß den Einfluß fermentativer Prozesse nicht aus.

## d) DIE ENTDECKUNG DES OXYHÄMOGLOBIN ALS OXIDANS

Die Ursache dieses "fermentativen Prozesses" glaubten SMALLDON et al. 1973 mit dem Oxyhämoglobin gefunden zu haben. Sie untersuchten die Veränderung des Äthanolspiegels in Alkohollösungen, die sie aus vier Wochen altem Transfusionsblut herstellten. Mit Hilfe einer Faktorenanalyse kamen sie zu dem Ergebnis, daß von den vier Faktoren Alkoholkonzentration, NaF-Konzentration, Temperatur und Lagerungszeit nur die drei letzten einen Einfluß auf die Veränderung der BAK hatten. Blutproben, denen kein NaF als Stabilisator zugesetzt worden war, verloren in fünf Tagen, wenn sie bei 37°C aufbewahrt wurden, bis zu 0,68 ‰; demgegenüber nahm die Alkoholkonzentration bei Blutproben, die mit 4 % NaF versetzt waren, in derselben Zeit nur um 0,12 ‰ ab. D.h., das mikrobielle Wachstum wurde durch NaF gehemmt, ein leichter Abfall der Äthanolkonzentration konnte jedoch nicht verhindert werden. Die Mehrzahl der 50 NaF-Proben, die die Untersucher bei Zimmertemperatur bis 83 Tage lagerten, zeigten einen steten Abfall. Die größte Differenz bis zur Nachmessung betrug 0,13 ‰. Außerdem fanden die Autoren eine starke Temperaturabhängigkeit der Konzentrationsänderung des Alkohols: Die Äthanolverluste stiegen schnell mit Erhöhen der Lagerungstemperatur. Bei 62°C war im Chromatogramm ein Acetaldehydpeak zu erkennen, während der Äthanolpeak zurückging.

Nach den Messungen SMALLDONs und seiner Mitautoren betrug der Alkoholverlust in den ersten Tagen des Versuchs in den Fraktionen einer Blutprobe bei einer Lagerungstemperatur von 22°C 0,0029 ‰ täglich, während er bei 37°C auf das 22fache, nämlich auf 0,06‰ anstieg. Die Untersucher schlossen als Ursache für diesen Verlust die Zunahme des spezifischen Serumgewichtes aus, da derselbe Effekt auch bei Vollblutanalysen beobachtet werden konnte. Um die Oxidationsaktivität zu lokalisieren, trennten sie die Blutzellen vom Serum und

stellten fest, daß der Alkohol in den Erythrozyten oxidiert wird. Mit feineren Fraktionierungsmethoden wurde Oxyhämoglobin bzw. eine Oxyhämoglobin-Zwischenstufe als die Substanz bestimmt, die als Äthanoloxidans wirkt. Die Reaktion der Äthanoloxidation ist erster Ordnung in bezug auf die Oxyhämoglobinkonzentration und nullter Ordnung in bezug auf die Alkoholkonzentration. Die Reaktion verläuft also unabhängig von der Konzentration des Alkohols. Es besteht keine signifikante Abhängigkeit der Reaktion von Coenzymen. Außerdem berichteten SMALLDON und seine Mitarbeiter, daß NaF nicht in der Lage sei, die Äthanoloxidation zu hemmen. Sie schlugen Natriumazid als Inhibitor vor.

CURRY zitiert 1974 die Entdeckung eines Enzyms in den Erythrozyten, das Alkohol metabolisiert. Da die Reaktion unter den Bedingungen der Inkubationszeit und -temperatur während der gaschromatographischen Bestimmung schnell genug sei, um Acetaldehyd- und Propionaldehydpeaks zu zeigen, schlug er den Zusatz einer reduzierenden Substanz zum inneren Standard vor, um die Alkoholoxidationsreaktion zu stoppen.

Auch HAYDEN, LAYDEN und HICKEY gingen 1977 auf die Untersuchungen von SMALLDON et al. ein. Sie bestätigten, daß der Alkoholverlust nicht von der Äthanolausgangskonzentration abhängig sei. Sie schlugen deshalb vor, die Konzentrationsänderung in Promille-Differenzen, nicht in Prozent des Ausgangswertes anzugeben, wie es vielfach noch üblich ist.

Bei 200 Proben, die sie 30 - 50 Tage im Kühlschrank lagerten, sank der Alkoholgehalt in dieser Zeit um durchschnittlich 0,024 °/oo. Bei Urinproben, die zur gleichen Zeit untersucht wurden, war der Alkoholverlust geringer. Dieser Unterschied wurde mit der Abwesenheit eines Oxydationsmechanismus im Urin und der größeren Homogenität der Urinprobe erklärt. 11 Blutproben, die im Kühlschrank ein Jahr gelagert wurden, verloren durchschnittlich 0,13 °/oo Alkoholgehalt, bei einer Probe sank der Äthanolspiegel sogar um 0,27 °/oo ab. Bei

50 mit 1 % NaF versetzten Leichenblutproben, die 3 - 6 Wochen bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, betrug der mittlere Alkoholverlust 0,034 ‰. In keinem Fall erfolgte eine signifikante Zunahme des Alkoholgehaltes.

## C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die eigenen Untersuchungen hatten zum Ziel, zu ermitteln, ob der Alkoholgehalt in den Blutproben, die zum Zweck der BAK-Bestimmung entnommen worden waren, auch in dem kurzen Zeitraum von höchstens sieben Tagen eine Veränderung erfahren könnte. Zu diesem Zweck wurden 153 Blutproben von freiwilligen Probanden untersucht, die alkoholische Getränke zu sich genommen hatten. Die Messung der Äthanolkonzentration aus dem Serum erfolgte mit dem Gaschromatograph Perkin Elmer Multifract F 42 als Dampfraumanalyse.

Die Untersuchungen wurden in folgender Reihenfolge vorgenommen:

a) Prüfung der Veränderung des Alkoholgehalts bei Blutproben, die mit Luft kontaminiert waren. Die Proben wurden bei drei verschiedenen Temperaturen gelagert.

b) Untersuchungen an vollständig gefüllten Venülen, die ungeöffnet bei drei verschiedenen Temperaturen gelagert wurden.

c) Untersuchungen an zum Teil gefüllten Venülen, die ungeöffnet bei zwei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt wurden.

d) Prüfung der Veränderung der Äthanolkonzentration im Serum, das vom Blutkuchen getrennt ist.

a) UNTERSUCHUNGEN AN MIT LUFT VERKEIMTEN BLUTPROBEN

Der Einfluß einer möglichen bakteriellen Kontamination wurde mit folgender Versuchsanordnung geprüft: 24 Blutproben wurden von Probanden, die 1/4 - 1 l Wein getrunken hatten, entnommen, am Tag nach der Entnahme auf die BAK hin untersucht und in nicht sterilisierten, sauberen Reagenzgläsern mit Gummistopfenverschluß bei drei verschiedenen Temperaturen gelagert. Je acht Proben wurden im Kühlschrank ($4^{o}C$), bei Zimmertemperatur ($22^{o}C$) und im Brutschrank ($40^{o}C$) aufbewahrt.

1. Lagerung bei $4^{o}C$

Da bei diesen Proben nur wenig Änderung der BAK zu erwarten war, erfolgte die Nachuntersuchung erst am 18. und 32. Tag. Nach 18 Tagen hatte die Äthanolkonzentration aller Proben um durchschnittlich 0,038 ‰ abgenommen. Die Differenzen lagen zwischen 0,01 ‰ und 0,05 ‰. Die mittlere Abnahme vergrößerte sich nach 32 Tagen auf 0,053 ‰. Nach dieser Zeit lagen die Differenzen zwischen 0,02 ‰ und 0,07 ‰.

Die Abnahme erwies sich als unabhängig vom Ausgangswert der BAK.

2. Lagerung bei $22^{o}C$

Diese acht Proben wurden täglich geöffnet und untersucht, wodurch die Keimbesiedlung des Blutes begünstigt wurde. Die Äthanolkonzentration aller Proben nahm bis zum 7. Tag um durchschnittlich 0,14 ‰ ab. Das Blut hatte sich bis dahin violett verfärbt und roch stark faulig.

3. Lagerung bei $40^{o}C$

Die bei $40^{o}C$ gelagerten Blutproben zeigten bei der Nachuntersuchung am 7. Tag ein uneinheitliches Verhalten hinsichtlich der Veränderung der Äthanolkonzentration. Bei drei der acht Proben nahm die BAK

jeweils um 0,08 ‰, 0,06 ‰ und 0,10 ‰ zu, bei einer Probe blieb sie gleich und bei vier Proben nahm sie zwischen 0, 01 ‰ und 0,06 ‰ ab. Auch hier waren die Reagenzgläser täglich geöffnet worden, um Serum zu entnehmen. Der Wassergehalt des Serums hatte sich bei allen acht Proben durch offensichtlich bakteriell bedingte partielle Hämolyse vermindert. Er betrug noch zwischen 82 % und 84 % (Normalwert: 90 % - 92 %).
Das Ergebnis dieses Versuchs zeigt, daß die Alkoholkonzentration der Proben durch Keimbesiedlung in unvorhersehbarer Weise beeinflußt werden kann. Bei der Aufbewahrung der Proben im Kühlschrank herrscht der Abbau des Alkohols vor. Demgegenüber kann der Äthanolgehalt in den Proben, die bei höherer Temperatur gelagert werden, sowohl absinken als auch ansteigen.

## b) AUFBEWAHRUNG IN NICHT GEÖFFNETEN, VOLLSTÄNDIG GEFÜLLTEN VENÜLEN

Bei der folgenden Versuchsanordnung wurden die Bedingungen der polizeilichen Blutentnahme mit Venülen exakt nachgeahmt. Den Probanden, die Alkohol konsumiert hatten, wurde von 2 Personen zur gleichen Zeit aus der Cubitalvene am linken und rechten Arm Blut entnommen. Die Entnahme am einen Arm erfolgte mit einer 5 ml-Spritze, am anderen Arm mit einer 8 ml-Vakuumvenüle der Behringwerke. Die Venülen enthielten keinen gerinnungshemmenden Zusatz. Die Stichstellen auf der Haut wurden mit Sublimatlösung desinfiziert. Der Zeitunterschied zwischen den Probenentnahmen aus den beiden Venen war nicht größer als fünf Sekunden. Aus dem Serum des mit der Spritze entnommenen Blutes wurde am nächsten Tag die BAK ermittelt. Die Venülen wurden ungeöffnet unter verschiedenen Bedingungen einige Tage gelagert.

1. Aufbewahrung im Kühlschrank

Acht Venülen wurden bei 4°C 7 Tage gelagert. Die BAK-Bestimmung nach einer Woche zeigte keine signifikante Änderung der Alkoholkonzentration gegenüber den Ausgangswerten. Die Differenzen waren sowohl positiv als auch negativ im Bereich von 0 - ±0,02 ‰.

2. Lagerung bei Zimmertemperatur

Bei weiteren acht Venülen wurde nach einer Lagerungszeit von 6 Tagen bei ca. 22°C die BAK bestimmt. Bei fünf Proben lagen die Untersuchungswerte der GC-Doppelbestimmung um 0,01 ‰ bis 0,05 ‰ niedriger, bei zwei Proben um 0,01 ‰ und 0,02 ‰ höher, ein Wert blieb gleich. Die Streubreite der Differenzen war zu groß um eine eindeutige Aussage machen zu können: Das Ergebnis legte jedoch die Vermutung nahe, daß eine leichte Abnahme der BAK erfolgte. Derselbe Versuch wurde mit 11 Proben und einer Lagerungszeit von 10 Tagen wiederholt. In sieben Venülen ergab sich eine negative Differenz von 0,01 ‰ - 0,04 ‰ gegenüber der Bestimmung in den parallell entnommenen Blutproben; ein Wert blieb gleich, bei drei Venülen lag der Untersuchungswert um 0,01 ‰, 0,02 ‰ und 0,04 ‰ höher.

Um die Streubreite der Differenzen zu verkleinern, und damit das Untersuchungsergebnis präzisieren zu können, erfolgte bei den nächsten 10 Venülen, die 7 Tage bei Zimmertemperatur lagerten, eine Sechsfachbestimmung. Die Differenzen waren jetzt alle negativ und lagen zwischen 0,01 ‰ und 0,03 ‰. Die mittlere Abnahme betrug 0,018 ‰. Die Daten wurden mit dem t-Test für verbundene Stichproben untersucht. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ( $\alpha$ = 0,05) zeigte sich, daß die Differenzen als eine signifikante Abnahme gedeutet werden konnten. Der Wassergehalt des Serums bewegte sich zwischen 90 % und 92 %.

3. Lagerung bei Zimmertemperatur mit täglichem Schütteln

Acht Proben wurden bei ca. 22°C aufbewahrt und täglich einmal kräftig geschüttelt. Das Serum war bei der Untersuchung nach 7 Tagen durch partielle Hämolyse deutlich rot gefärbt. Der Wassergehalt dieses Serums lag aber mit 88 % - 89 % nur wenig niedriger als bei dem vorigen Versuch. Bei fünf der acht Venülen lag der Meßwert der BAK um 0,01 ‰ - 0,03 ‰ niedriger als der Ausgangswert, zwei der Werte stimmten mit ihm überein, einer lag um 0,01 ‰ höher als der Untersuchungswert der Erstbestimmung. Wieder wurde der t-Test für verbundene Stichproben angewandt. Der Unterschied erwies sich hier schon bei der GC-Doppelbestimmung als (niedrig) signifikant ( $\alpha$ = 0,05).

4. Lagerung der Venülen bei 40°C

Acht Venülen wurden 6 Tage im Brutschrank bei 40°C gelagert. Sie zeigten keine oder nur negative Differenzen bis 0,04 ‰. Der Wassergehalt der Seren betrug 89 % - 90 %. Eine weitere Probenserie von acht Venülen wurde 10 Tage bei 40°C aufbewahrt. Ein Untersuchungswert war jetzt mit dem Ausgangswert identisch, fünf Werte differierten um - 0,01 ‰ bis - 0,10 ‰, zwei Werte lagen um 0,04 ‰ höher als die Meßergebnisse der Erstbestimmung.
Bei zehn Proben, deren Aufbewahrungszeit im Trockenschrank 7 Tage betrug, wurde die BAK mit einer Sechsfachbestimmung ermittelt.
Die Differenzen streuten jetzt weniger als bei der Doppelbestimmung; sie lagen bei -0,01 ‰ bis -0,03‰. Die durchschnittliche Abnahme betrug 0,019 ‰ und war mit $\alpha$ = 0,05 % signifikant (T-Test für verbundene Stichproben).

Das Ergebnis dieser Untersuchung zeigt, daß die Äthanolkonzentration bei den nicht im Kühlschrank gelagerten Venülen abnimmt, obwohl deren Inhalt nicht mit Bakterien in Berührung gekommen sein kann. Überraschend ist auch, daß der Wassergehalt im Serum der

geschüttelten Proben nur um ca. 2 % unter dem der ruhig gelagerten Proben liegt. Demnach wird auch die Alkoholkonzentration des Serums sehr wenig durch die geringgradige Hämolyse beeinflußt.

c) AUFBEWAHRUNG IN NICHT GEÖFFNETEN, NICHT VOLLSTÄNDIG GEFÜLLTEN VENÜLEN

Bei den nächsten zwei Versuchsserien wurden die Venülen nur zu einem Drittel oder zur Hälfte gefüllt. Der Rest des Vakuums wurde mit Zimmerluft ausgeglichen.

1. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur

22 Proben wurden 7 Tage bei Zimmertemperatur gelagert und die Meßwerte der BAK mit einer GC-Sechsfachbestimmung ermittelt. Die Differenzen gegenüber den Werten bei der Erstbestimmung schwankten zwischen +0,01 ‰ (bei zwei Venülen) und -0,03 ‰. Die Alkoholkonzentration einer Blutprobe hatte um 0,08 ‰ abgenommen. Der mittlere Unterschied betrug -0,018 ‰. Die Untersuchung auf Signifikanz war positiv auf dem Signifikanzniveau von 0,05 %.

2. Aufbewahrung bei 40°C

Weitere 18 Proben wurden 7 Tage im Trockenschrank gelagert. Die Alkoholkonzentration wurde mit einer Sechsfachbestimmung ermittelt. Auch hier betrug die mittlere Abnahme gegenüber dem Ausgangswert 0,018 ‰. Die Differenzen streuten jedoch so stark (von -0,08 ‰ bis +0,07 ‰), daß dies nicht als signifikante Abnahme gewertet werden konnte.

Aus diesem Untersuchungsergebnis kann gefolgert werden, daß die Äthanolkonzentration in den nur zum Teil gefüllten Venülen, die bei 22°C aufbewahrt werden, im gleichen Maß abnimmt wie in den

vollständig gefüllten Blutentnahmegefäßen. Der Alkoholspiegel in den bei 40°C gelagerten Proben veränderte sich jedoch nach beiden Seiten: Bei einigen Proben steigt er an, bei den anderen fällt er ab.

d) UNTERSUCHUNGEN AM VOM BLUTKUCHEN GETRENNTEN SERUM

Um den Einfluß der Blutkuchenbestandteile auf den Alkoholabbau zu untersuchen, wurde bei 18 Blutproben das Serum, sobald sich der Blutkuchen abgesetzt hatte, mit einer sterilen Kanüle abgezogen und in sterilisierten Glasfläschchen mit Bördelverschluß (wie sie für die GC-Bestimmung benutzt werden) 7 Tage bei Zimmertemperatur gelagert. Hier lagen die Differenzen zwischen Erst- und Zweitbestimmung alle im Bereich der Streubreite der Meßmethode. Sie waren sowohl positiv als auch negativ. Es konnte keine Abnahme verzeichnet werden.

## D. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse der eigenen Analysen wurden in Tabelle I zusammengefaßt.
Das Ergebnis der letzten Untersuchung, in der gezeigt wird, daß im Serum allein kein Äthanolabbau erfolgt, stimmt mit der These SMALLDONs überein, der annahm, daß Oxyhämoglobin den Alkohol oxidiert. Fehlt dieses Oxidans, so findet kein Alkoholabbau im Serum statt. Wie aus der Tabelle II zu ersehen, besteht kein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Abnahme des Äthanolspiegels und der Alkoholausgangskonzentration. Auf die lineare Abnahme deuten auch die Ergebnisse der Untersuchungen IFFLANDs hin, der bei längere Zeit im Kühlschrank aufbewahrten Blutproben feststellte, daß die prozentuale Abnahme der BAK bei Proben mit geringerem Äthanolgehalt größer ist als bei Proben höherer Konzentration. Dieser lineare Zusammenhang wurde von HICKEY et al. 1977 bestätigt.

Das Ausmaß der Abnahme der Äthanolkonzentration in den Venülen, die bei Zimmertemperatur gelagert wurden, stimmt bei der vorliegenden Untersuchung mit dem Ergebnis der Analysen SMALLDONs überein. Er berichtete von einem Abfall der BAK pro Tag zwischen 0,0016 ‰ (bei den Proben, die er 83 Tage gelagert hatte) und 0,0029 ‰. Bei den eigenen Untersuchungen fand sich eine mittlere Abnahme des Äthanolspiegels von 0,0025 ‰ pro Tag.

Der große Anstieg des Alkoholabbaus auf das 22fache, den SMALLDON in einer bei 40°C aufbewahrten Probe gemessen hatte, konnte bei der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet werden. Der durchschnittliche Verlust betrug auch bei der höheren Temperatur nicht mehr als 0,027 ‰ pro Tag. Für eine genaue Bestimmung des täglichen Abbauverlustes müßte selbstverständlich die Probenzahl wesentlich vergrößert werden.

Die Vermutung des einleitend zitierten Oberstaatsanwaltes, der glaubte, daß die durch den Postversand entstandene Hämolyse die Promillewerte des Blutes wesentlich verändere, wurde nicht bestätigt. Der Wassergehalt im Serum der Venülen, die täglich kräftig geschüttelt wurden, hatte nur ganz gering abgenommen im Vergleich zu den Proben, die ruhig lagerten: Er betrug 88 % - 89 % im Vergleich zu 90 - 92 %. Die hier gefundene Abnahme des Alkoholspiegels liegt in demselben Bereich, wie bei den nicht geschüttelten Venülen (0,0025 ‰/Tag) und ist genau wie diese forensisch nicht von Bedeutung.

Die größte mit der Sechsfachbestimmung ermittelte Abweichung betrug - 0,03 ‰ bei einer vollständig gefüllten Venüle, die 7 Tage aufbewahrt wurde. Die maximal tolerierte Streuung beträgt nach den Richtlinien des Bundesgesundheitsamtes ± 5 % des Probenmittelwertes. D.h., daß bei einem Blutalkoholspiegel gleich oder größer als 0,8 ‰ eine Streuung bei der Konzentrationsbestimmung von 0,04 ‰ zulässig ist. Die Differenz von 0,03 ‰ liegt damit bei allen vor Gericht interessanten Blutalkoholkonzentrationen innerhalb des Genauigkeitsbereiches, den das Gesetz fordert.

Die einzige Möglichkeit eines Anstiegs der BAK existiert bei Venülen, die nur halb mit Blut gefüllt werden und während des Versands längere Zeit einer höheren Temperatur ausgesetzt sind. Hier fanden sich bei der Untersuchung sowohl größere negative als auch positive Differenzen - von -0,08 ‰ bis ±0,07 ‰. Möglicherweise sind die Veränderungen durch Luftkeime entstanden, die beim Druckausgleich in die Venüle gelangt sind. Es sollte deshalb vermieden werden, die Venülen nur halb mit Blut zu füllen.

TABELLE I

Veränderungen des Alkoholgehalts in Blutproben zwischen Entnahme und Untersuchung

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

| Modus | N | T | t | d | R | Sig | GC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nicht steril | 8 | 4°C | 18 | -0,038 | -0,01/-0,05 | + | 2fach |
| nicht steril | 8 | 4°C | 32 | -0,053 | -0,02/-0,07 | + | 2fach |
| nicht steril | 8 | 22°C | 7 | -0,148 | -0,09/-0,28 | + | 2fach |
| nicht steril | 8 | 40°C | 7 | +0,016 | +0,08/-0,06 | - | 2fach |
| vollst. gefüllt | 8 | 4°C | 7 | +0,001 | +0,02/-0,02 | - | 2fach |
| vollst. gefüllt | 8 | 22°C | 6 | -0,011 | +0,02/-0,05 | - | 2fach |
| vollst. gefüllt | 11 | 22°C | 10 | -0,005 | +0,04/-0,04 | - | 2fach |
| vollst. gefüllt | 10 | 22°C | 7 | -0,018 | -0,01/-0,03 | + | 6fach |
| v.g. + Schütteln | 8 | 22°C | 7 | -0,012 | +0,01/-0,03 | + | 2fach |
| vollst. gefüllt | 8 | 40°C | 6 | -0,016 | 0/-0,04 | + | 2fach |
| vollst. gefüllt | 8 | 40°C | 10 | -0,016 | +0,04/-0,10 | - | 2fach |
| vollst. gefüllt | 10 | 40°C | 7 | -0,019 | -0,01/-0,03 | + | 6fach |
| nicht vollst. gef. | 22 | 22°C | 7 | -0,018 | +0,01/-0,08 | + | 6fach |
| nicht vollst. gef. | 18 | 40°C | 7 | -0,018 | +0,07/-0,08 | - | 6fach |
| Serum | 18 | 22°C | 7 | +0,003 | +0,02/-0,02 | - | 2fach |

N = Anzahl der Proben
T = Lagerungstemperatur
t = Lagerungszeit in Tagen
d = Mittlere Abnahme
R = Spannweite der Differenzen in Promille
Sig = Signifikante Abnahme (= 0,05)
GC = Doppel- oder Sechsfachbestimmung

TABELLE II

Vergleich von Blutproben, die 7 Tage gelagert wurden

| Volle Venülen 22°C | | Volle Venülen 40°C | | Halbgefüllte Venülen/40°C | | Serum 22 °C | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| x | d | x | d | x | d | x | d |
| 0,96 | -0,02 | 0,96 | -0,01 | 0,79 | +0,03 | 0,88 | +0,01 |
| 0,86 | -0,02 | 0,79 | -0,01 | 0,85 | +0,01 | 0,50 | 0 |
| 0,43 | -0,03 | 0,67 | -0,02 | 0,81 | +0,02 | 0,64 | 0 |
| 0,35 | -0,01 | 0,83 | -0,02 | 0,22 | -0,02 | 1,02 | 0 |
| 0,67 | -0,01 | 0,77 | -0,03 | 0,35 | -0,01 | 0,33 | -0,01 |
| 0,58 | -0,01 | 0,74 | -0,03 | 0,66 | -0,05 | 0,95 | +0,02 |
| 0,93 | -0,02 | 0,66 | -0,01 | 0,91 | +0,02 | 0,52 | -0,01 |
| 1,62 | -0,02 | 0,48 | -0,01 | 0,74 | -0,03 | 0,44 | 0 |
| 0,59 | -0,02 | 0,55 | -0,03 | 1,18 | -0,06 | 0,83 | +0,02 |
| 0,78 | -0,02 | 0,93 | -0,02 | 0,42 | +0,02 | 1,14 | -0,01 |
| | | | | 0,68 | -0,03 | 0,54 | +0,01 |
| d = 0,018 | | d = 0,019 | | 0,79 | -0,03 | 0,63 | 0 |
| d/Tag = 0,0025 | | d/Tag = 0,0029 | | 0,76 | -0,04 | 0,52 | +0,01 |
| | | | | 0,89 | -0,04 | 0,38 | -0,01 |
| | | | | 0,33 | +0,07 | 0,74 | +0,02 |
| | | | | 1,25 | -0,08 | 0,56 | +0,03 |
| | | | | 0,63 | -0,07 | 0,78 | -0,01 |
| | | | | 0,54 | -0,04 | 0,91 | 0 |
| | | | | d = 0,018 | | d = 0,003 | |
| | | | | | | d/Tag = 0,0004 | |

x = Ausgangswert der Blutprobe in Promille
d = Änderung der Äthanolkonzentration in Promille

## E. LITERATURVERZEICHNIS


BOGUSZ, M.
GUMINSKA, M.,
MARKIEWICZ, J.:
Studies on the Formation of Endogenous Ethanol in Blood Putrefying in vitro
Jour. of For. Med. 17 (1970), 156

BROWN, G.A.,
NEYLAN, D.,
REYNOLDS, K.J.,
SMALLDON, K.W.:
The Stability of Ethanol in Stored Blood
Part I. Important Variables and Interpretation of Results
Anal. Chim. Acta, 66 (1973), 271

CURRY, A.S.:
Chromatography and Forensic Chemistry
J. Chromatogr. Sci.
12 (1974), 529

ELBEL, H.:
Die wissenschaftlichen Grundlagen der Beurteilung von Blutalkoholbefunden
Leipzig 1937 (Thieme Verlag)

ELBEL, H.:
Blutalkohol
Die wissenschaftlichen Grundlagen der Beurteilung von Blutalkoholbefunden bei Straßenverkehrsdelikten
Bonn 1956 (Thieme Verlag)

FENDT, H.:
Bericht an den Generalstaatsanwalt bei dem Oberlandesgericht in München
Aktenzeichen: GA 41E - 161/73
vom 5.2.1974

HAYDEN, P.M.,
LAYDEN, M.T.,
HICHEY, M.D.:
The Stability of Alkohol Content in Samples of Blood and Urine
Ir. J. Med. Sci.
146 (1977), 48

IFFLAND, R.:
Zum Problem der Nachuntersuchung länger gelagerter Blutproben
Blutalkohol 11 (1974), 189

JOACHIM, H.,
WUERMELING, H.B.,
WÜST, U.:
Die postmortale Entstehung von Äthanol im Diabetikerblut und -harn
Blutalkohol 12 (1975), 217

KARGER, J.V.,
SACHS, V.:
Über die Ursachen des Konzentrationsabfalls in ordnungsgemäß verschlossenen und aufbewahrten alkoholhaltigen Blutproben
Dtsch. Z. für gerichtl. Med.
47 (1958), 614

KRAULAND, W.,
VIDIC, E.,
FREUDENBERG, K.:
Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung an länger gelagerten Blutproben
Dtsch. Z. für gerichtl. Med.
52 (1961), 76

MITTMEYER, H.-J.:
In vitro-Untersuchungen über die Veränderungen des Alkoholgehaltes länger gelagerter Rinderblutproben
Blutalkohol 9 (1972), 98

OSTERHAUS, E.,
JOHANNSMEIER, K.:
Postmortale Entstehung von Alkoholen durch Fäulnis
Dtsch. Zeitschr. für die gesamte gerichtl. Med.
57 (1966), 281

RADMANN, R.: Über die Möglichkeit der Beeinflussung des Blutalkoholgehaltes durch das Verschlußmaterial und den Füllungsgrad der Versandgefäße Inaug. Diss., Münster 1940

ROMMEL, K., SCHÄFER, H., ÜBERLA, K.: Postversand von Serumproben fragwürdig Medical Tribune, Ausgabe für Deutschland, Jahrgang 9, Nr. 4 25.1.1974

SMALLDON, K.W., BROWN, G.A.: The Stability of Ethanol in Stored Blood Part II. The Mechanism of Ethanol Oxidation Anal. Chim. Acta, 66 (1973), 285

SCHMIDT, Gg., HECK, K.: Über den Einfluß unvollständiger Füllung von 15 ml - Venülen auf die Blutalkoholkonzentration Forschungsergebnisse der gerichtlichen Medizin, Verlag Max Schmidt - Römhild, Lübeck, Schleyer, 1967, 225

SCHWERD, W.: Die Beurteilung von Alkoholbefunden im Leichenblut Dtsch. Zeitschr. für die ges. gerichtl. Med. 43 (1954), 221

SCHWERD, W., DIMMLING, T., KREBS, J.: Der Einfluß bakterieller Verunreinigungen auf den Alkoholgehalt länger gelagerter Blutproben Blutalkohol 4 (1967), 260

SCHWERD, W.,
DIMMLING, Th.,
KRANENBURG, G.:
Über die Präsenzdauer verschiedener Arten vermehrungsfähiger Mikroorganismen in menschlichen alkoholhaltigen Vollblutproben und ihr Einfluß auf die Alkoholkonzentration.
Blutalkohol 9 (1972), 315

SCHWERD, W.:
Alkoholbefunde bei Nachuntersuchungen
Beitr. Gerichtl. Medizin
31 (1973), 238

WEINIG, E.,
LAUTENBACH, L.:
Die Beurteilung von Alkoholbefunden in Leichenblutproben
Blutalkohol 1 (1962), 222

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. Schwerd, der die Anregung zu dieser Arbeit gab, danke ich herzlich für seine Anleitung, für zahlreiche wertvolle Hinweise und das mir immer entgegengebrachte Verständnis.

Herrn Professor Dr. E. Schulz danke ich für die Übernahme des Korreferates.

LEBENSLAUF

Am 4. Mai 1955 wurde ich, Ilke Hillermeier, als Tochter des Beamten Karl Hillermeier und seiner Ehefrau Lieselotte Hillermeier, geb. Saemann in Uffenheim geboren.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich dort die Volksschule. Im Jahr 1965 wechselte ich an das Christian-von-Bomhard-Gymnasium in Uffenheim über, an dem ich 1974 das Abitur ablegte.

Von 1974 bis 1980 studierte ich in Würzburg an der Julius-Maximilians-Universität Medizin. Im November 1980 erhielt ich die Approbation.

Ilke Hillermeier

(Ilke Hillermeier)

Druck: Böhler-Verlag 87 Würzburg, Seilerstr. 10-10a